

STATUS INFEKSI VIRUS INFLUENZA A PADA BEBERAPA SPESIES HEWAN SEBELUM WABAH AVIAN INFLUENZA H5N1 PADA UNGGAS DI INDONESIA¹

[Infection Status of Influenza A Virus in some Animal Species before Poultry Avian Influenza H5N1 Outbreak in Indonesia]

Indrawati Sendow² RM Abdul Adji² dan Paul Selleck³

²Research Institute for Veterinary Science, PO BOX 30 Bogor, Indonesia

³CSIRO - Australian Animal Health Laboratory, PO Bag 24, Geelong, Australia

*e-mail: balitvet@indo.net.id; indrawati.sendow@yahoo.com

ABSTRACT

After outbreak of Avian Influenza HPAI in chicken in mid 2003 in Indonesia, there was a question whether Avian Influenza HPAI was already presence in animals before the outbreak. A retrospective study was conducted to gain information on the presence of Influenza A virus infection in a range of animal species that could be infected by the virus. A total of 1529 animal sera, from 8 species from 12 different provinces which were stored at the Bbalitvet (Research Institute for Veterinary Science) Serum Bank were tested against matrix antigen of Influenza A using the Agar Gel Immunodiffusion (AGID) test. The results indicated that only 0.6% of animal tested which consisted of 4% of duck sera and 0.4% of pig sera were reacted in the AGID test with weak reaction. Those sera were then tested against Influenza A group viruses using an Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), indicated that Influenza A viruses were not detected in either duck and pig positive sera. Those sera which were also tested by HI test against antigens of H1, H3 and H7, also indicated that none of those sera were reacted. In addition, 134 lung of pigs from an abattoir were collected for virus isolation. The viral isolation on chicken embryonated eggs resulted in 12 samples that contained viruses with agglutinated goose and chicken red blood cells. Identification of viruses isolated was done by agglutination test and ELISA. The results showed that none of those isolates were Influenza Type A virus. This study showed that influenza A virus group infection was not detected in animal species sampled before outbreak of AI H5N1 in 2003 in Indonesia.

Keywords: Influenza A, pig, serologic, isolation.

ABSTRAK

Terjadinya wabah Avian Influenza HPAI pada tahun 2003 pada ayam, telah menimbulkan pertanyaan, apakah AI juga berada pada hewan lainnya sebelum terjadi wabah tersebut. Studi retrospektif telah dilakukan untuk mengetahui apakah virus Influenza A pada hewan telah terjadi. Sebanyak 1531 serum hewan dari 8 spesies yang berasal dari 12 propinsi yang tersimpan di bank serum Bbalitvet telah diuji terhadap adanya antibodi kelompok virus influenza A dengan menggunakan uji Agar Imunodifusi (AGID). Hasil menunjukkan bahwa 0,06 % serum yang diuji memberikan reaksi positif lemah, yang terdiri dari 4 % serum bebek dan 0,4% serum babi. Serum yang positif tersebut kemudian diuji dengan uji ELISA terhadap kelompok virus influenza A. Hasil uji lanjutan ini menunjukkan bahwa influenza A tidak terdeteksi baik pada serum bebek maupun serum babi. Serum tersebut juga diuji dengan uji *Haemagglutination Inhibition* (HI) terhadap antigen H1, H3 dan H7, juga menunjukkan tidak adanya reaksi positif. Lebih lanjut, sebanyak 134 sampel paru-paru babi asal Rumah Potong Hewan (RPH) dikoleksi untuk isolasi virus Influenza A pada telur ayam berembryo. Hasil isolasi virus menunjukkan bahwa 12 sampel tersebut mengandung virus yang dapat mengaglutinasi sel darah merah ayam dan angsa. Identifikasi virus dilakukan dengan uji Aglutinasi Darah dan ELISA. Hasil pengujian menunjukkan bahwa, ternyata seluruh isolat bukan virus Influenza A. Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa infeksi Influenza A pada hewan belum pernah terjadi di lokasi penelitian sebelum terjadinya wabah AI H5N1 pada tahun 2003.

Kata kunci: Influenza A, babi, serologi, isolasi

PENDAHULUAN

Pada pertengahan tahun 2003 telah terjadi wabah *Highly Pathogenic Avian Influenza* (HPAI) pada unggas, yang akhirnya dikonfirmasi sebagai AI pada awal tahun 2004 di Indonesia (OIE, 2004). Sejak saat itu, muncul dugaan bahwa penyakit Influenza pada unggas, babi dan hewan lainnya sebelumnya pernah terjadi di Indonesia. Selanjutnya, muncul kasus baru tentang swine influenza atau yang lebih dikenal

sebagai flu babi pada tahun 2009, dimana terjadi wabah influenza pada manusia yang disebabkan oleh virus swine influenza di Mexico. Gejala klinis penyakit ini pada babi tidak tampak (Brockwell-Staats *et al*, 2009). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa wabah tersebut disebabkan oleh virus influenza H1N1 novel yang dianggap merupakan gabungan unsur-unsur genetik dari influenza babi, unggas dan manusia (Reperant *et al*, 2009).

Penyakit Influenza pada hewan merupakan salah satu penyakit zoonosis yang berpotensi mengakibatkan dampak buruk bagi kesehatan manusia maupun hewan (Katz, 2003; Malik Peiris, 2009; Olsen *et al*, 2005). Penyakit ini disebabkan oleh virus influenza tipe A, famili *Orthomyxoviridae*, menyerang berbagai spesies hewan seperti babi, unggas, kuda, mamalia laut serta manusia (Swayne dan Suarez, 2000; Harimoto & Kawaoka, 2001). Hingga saat ini virus influenza telah diketahui ada 16 tipe Hemagglutinin (H) dan 9 tipe Neuramidase (N) (Alexander dan Brown, 2009). Namun demikian masing-masing spesies hewan memiliki tingkat kerentanan berbeda untuk tipe tertentu. Misalnya tipe HI dan H3 lebih sering menyerang ternak babi, meskipun tipe lainnya seperti H4 dan H9 juga dapat terdeteksi pada spesies babi (Harimoto dan Kawaoka, 2001; Olsen *et al*, 2002; Schrader dan Suss, 2004).

Sedangkan pada unggas, virus influenza A tipe H5 lebih sering terdeteksi (Olsen *et al*, 2002; Schrader dan Suss, 2004). Lebih lanjut, Reperant *et al*, (2009), melaporkan bahwa virus AI yang rendah patogenitasnya (LPAI) pada unggas, dapat menyebabkan infeksi saluran nafas pada spesies lain seperti babi, kuda dan manusia. Menurut Guo *et al*. (1992), virus influenza H7N7 merupakan virus influenza A yang dapat menyerang manusia, tetapi pada unggas gejala klinis yang ditimbulkan tidak parah.

Pada babi penyakit ini dikenal sebagai *Swine influenza* atau influenza babi, yang merupakan penyakit virus yang akut dan sangat kontagius pada semua kelompok umur, terutama babi muda. Penyakit influenza ini disebut sebagai flu babi klasik (*classical swine influenza*), yang ditandai dengan demam tinggi mencapai 41,5°C, nafsu makan menurun, bersin, batuk, sesak nafas, ingusan, konjungtivitis dan mata berair, meskipun gejala penyakit influenza babi sebagian besar bersifat asimtomatis (Bachmann, 1989; Olsen *et al*, 2005). Meskipun tingkat kematiannya rendah (kurang dari 10%), dan morbiditasnya tinggi sampai 100%, penyakit ini mengakibatkan penurunan bobot hidup yang drastis, sehingga secara ekonomi berdampak cukup signifikan bagi peternak (Sanford *et al*, 1983; Olsen *et al*, 2005).

Beberapa subtype virus AI tertentu, seperti H1N1 merupakan virus influenza babi yang dapat pula menginfeksi unggas dan manusia menyebabkan gejala klinis (Reperant *et al*, 2009; Wright *et al*, 1992). Meskipun pada awal terjadinya wabah AI di Indonesia kasus pada manusia belum tampak, namun ternyata padaakhirnya dilaporkan kasus AIH5N1 pada manusia. Dharmayanti and Darminto (2009) juga menemukan adanya sifat virus AI yang kemungkinan dapat ditularkan dari unggas ke manusia.

Untuk mengetahui apakah virus influenza A pada hewan telah berada di Indonesia sebelum tahun 2003, di mana pada pertengahan tahun 2003 terjadi wabah AI (H5N1) pada unggas, maka telah dilakukan pemeriksaan serologi terhadap sejumlah serum hewan dari berbagai daerah di Indonesia yang tersimpan pada Bank Serum Balai Besar Penelitian Veteriner (Bbalitvet). Sejumlah sampel organ dari babi dari Rumah Potong Hewan (RPH) juga dikoleksi untuk pembuktian adanya agen penyakit influenza A.

MATERIAL DAN METODE

Sampel serum

Sebanyak 1529 serum berbagai spesies hewan (sapi, kambing, domba, babi, anjing, kuda, ayam dan bebek) yang ada di Bank Serum Bbalitvet, berasal dari 12 Provinsi di Indonesia (Sumatera Utara, Riau, Lampung Kalimantan Barat, Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, Nusa Tenggara Timur, Bali dan Papua) dipergunakan dalam penelitian retrospeksi ini. Serum tersebut dikoleksi antara tahun 1995 hingga tahun 2000.

Sampel paru-paru babi

Sebanyak 134 sampel paru-paru dan trakhea babi dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kapuk, Jakarta digunakan untuk isolasi virus influenza A. Sampel paru-paru babi tersebut diambil dari paru-paru yang menunjukkan kelainan dan yang mengarah pada pneumonia. Kelainan dimaksud antara lain pembundungan dan hiperemi pada mukosa faring, laring, trakhea dan bronkhus, eksudat pada trakhea dan bronkhus, emphysema hingga atelektasi, perdarahan paru-paru dan pneumonia. Organ tersebut diambil secara aseptis dan disimpan dalam transport

media *Minimum Essential Medium* (MEM) berantibiotik kanamisin dengan kandungan 500ug/ml. Pengambilan sampel tersebut dilakukan pada tahun 1999.

Uji Agar Gel Immunodiffusion (AGID)

Untuk pengujian AGID digunakan antigen matrik mati (*inactive*) dari Virus Influenza AH7N7 LPAI, (8507 - 31 - 1430), dan Acuan antisera (positif) dan serum negatif terhadap virus influenza A (H7N7 LPAI) diperoleh dari *Australian Animal Health Laboratory* (AAHL) Geelong, Australia. Uji AGID dilakukan mengikuti metoda Sendow *et al.* (1991). Standar antisera positif dan negatif selalu disertakan pada setiap pengujian.

Isolasi Virus

Sampel berupa potongan paru-paru babi dibuat suspensi 20% dalam steril Phosphate buffer saline (PBS) berantibiotik Kanamisin 200 ug/ml. Suspensi tersebut disentrifus dengan kecepatan 1000 x g selama 10 menit. Sebanyak 100ul supernatan diinokulasikan pada 5 butir Telur Embryo Tertunas (TET) umur 9-10 hari secara intra alantoik dan diinkubasikan selama 3 hari pada suhu 33°C. Kematian embrio sampai dengan 24 jam pasca inokulasi dibuang dan dimusnahkan. Cairan alantoik di panen pada hari ke-2 atau 3 pasca inokulasi, lalu diuji dengan uji Hemaglutinasi (HA) cepat menggunakan 0,5% sel darah merah angsa dan ayam. Sampel yang mengalami aglutinasi darah kemudian dipasase ulang, dan diperbanyak virusnya untuk identifikasi lebih lanjut. Sampel yang tidak mengalami aglutinasi sel darah merah angsa dan atau ayam dipasase ulang 4 sampai 5 kali, sebelum dinyatakan negatif adanya virus.

Identifikasi Virus terhadap Sifat Agglutinasi Sel Darah Merah

Uji Hemaglutinasi (HA) cepat dilakukan dengan menggunakan 0,5% sel darah merah angsa dan ayam. Titrasi virus dilakukan pada sampel yang mengaglutinasi darah angsa atau ayam (OIE, 2004).

Identifikasi Virus Influenza A dengan ELISA

Isolat yang mengaglutinasi darah angsa/ayam, diidentifikasi lebih lanjut dengan menggunakan uji

ELISA terhadap kelompok virus influenza tipe A. Pelaksanaan uji ini dilakukan di AAHL, Geelong, Australia.

HASIL

Sebanyak 1.529 serum yang berasal dari 12 provinsi di Indonesia telah dikoleksi antara tahun 1995 hingga 2000 digunakan dalam penelitian ini. Pengujian dilakukan antara tahun 1999 hingga 2000. Serum tersebut terdiri dari delapan spesies hewan, yaitu kambing, domba, sapi, babi, anjing, kuda, ayam dan bebek seperti tercantum dalam Tabel 1. Pengujian serum terhadap adanya antibodi virus Influenza A dilakukan dengan menggunakan uji AGID. Hasil pengujian memperlihatkan bahwa dengan uji serologi AGID ada 10 (0,6%) dari 1529 serum hewan bereaksi positif, yaitu terjadi reaksi immunodiffusi antara serum dengan antigen uji yang digunakan, yang dimanifestasikan dalam bentuk garis putih pada area agar antara serum dengan dengan antigen. Kesepuluh serum tersebut terdiri dari lima serum bebek asal Papua dan satu asal Sumatera Utara (Tabel 2) serta dua serum babi asal DKI Jakarta, satu serum babi asal Kalimantan Barat dan satu serum babi asal Sulawesi Utara (Tabel 1).

Pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa dengan uji AGID, antibodi hanya terdeteksi pada serum bebek dan babi. Prevalensi reaktor tertinggi diperoleh pada serum bebek (4%), Prevalensi terendah ditemukan pada babi yaitu 0,4%. Semua serum positif memberikan reaksi lemah (1+). Sebanyak 137 sampel serum bebek asal propinsi Papua yang terdiri dari 106 serum bebek asal Merauke, 14 serum asal Wamena dan 17 serum asal Jayapura. Sebanyak lima dari 106 serum bebek asal Merauke, Propinsi Papua yang diuji memberikan reaksi positif lemah (1+). terhadap virus Influenza A. Sedangkan dari Sumatera Utara, satu dari 15 bebek yang diuji memperlihatkan hasil positif lemah.

Data pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa tidak adanya reaktor influenza A pada, sapi, kambing, domba, anjing, kuda dan ayam yang dikoleksi di 12 propinsi, yaitu DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sumatera Utara, Lampung, Riau, Kalimantan Barat, Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, Bali, Nusa Tenggara Timur dan Papua. Sedangkan dari 982 serum babi yang

Tabel 1. Distribusi antibody terhadap virus influenza A pada beberapa spesies hewan dengan menggunakan uji AGID di Indonesia.

No.	Lokasi	Spesies	Jumlah sampel	Reaktor (%)
1.	DKI - JAYA	Sapi	15	0(0)
		Babi	182	2 (1%)
2.	JAWA BARAT	Domba	21	0(0)
		Kuda	72	0(0)
		Anjing	15	0(0)
3.	JAWA TENGAH	Sapi	11	0(0)
4.	SUMATERA UTARA	Ayam	4	0(0)
		Babi	17	0(0)
		Bebek	15	1 (6,7%)
5.	LAMPUNG	Sapi	6	0(0)
		Kambing	16	0(0)
6.	RIAU	Sapi	8	0(0)
		Babi	11	0(0)
		Ayam	20	0(0)
7.	KALIMANTAN BARAT	Kambing	9	0(0)
		Babi	38	1 (2,6%)
		Ayam	15	0(0)
8.	SULAWESI UTARA	Sapi	12	0(0)
		Babi	30	1 (3,3%)
		Ayam	15	0(0)
9.	SULAWESI SELATAN	Kambing	14	0(0)
		Babi	16	0(0)
		Ayam	11	0(0)
10.	BALI	Sapi	11	0(0)
11.	NTT	Sapi	21	0(0)
		Kuda	13	0(0)
		Ayam	31	0(0)
		Babi	352	0(0)
12.	PAPUA	Sapi	10	0(0)
		Kuda	25	0(0)
		Babi	336	0(0)
		Ayam	20	0(0)
		Bebek	137	5 (3,6%)
TOTAL			1529	10(0.6%)

Tabel 2. Hasil serologis terhadap virus Influenza A dengan uji AGID pada ternak dan unggas

SPESES	JUMLAHSAMPLES	REAKTOR	% REAKTOR
SAPI	94	0	0
KAMBING	39	0	0
DOMBA	21	0	0
AYAM	116	0	0
BEBEK	152	6	4 %
KUDA	110	0	0
ANJING	15	0	0
BABI	982	4	0.4 %
TOTAL	1529	10	0.6 %

dikoleksi dari delapan propinsi, yaitu DKI Jakarta, Sumatera Utara, Riau, Kalimantan Barat, Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, Nusa Tenggara Timur dan Papua. Hanya 0,4% memberikan reaksi positif pada uji

AGID. Serum babi tersebut berasal dari daerah DKI-Jakarta (1%), Kalimantan Barat (2,6%) dan Sulawesi Utara (3,3%). Namun garis yang terbentuk sangat tipis, sehingga reaksi ini dikategorikan sebagai reaksi lemah

Tabel 3. Hasil uji ELISA dan HI pada serum positif dengan uji AGID pada serum babi dan bebek di beberapa daerah di Indonesia

Asal lokasi sampel (Provinsi)	Jenis sampel	Positif (%) Uji agid	Positif (%) Uji Elisa	Positif (%) Uji Hi (HI; H3; H7)
DKI - Jakarta	Babi	2 (1%)	0%	0%
Sumatera Utara	Bebek	1 (6,7%)	0%	0%
Kalimantan Barat	Babi	1 (2,6%)	0%	0%
Sulawesi Utara	Babi	1 (3,3%)	0%	0%
Papua	Bebek	5 (3,6%)	0%	0%

Tabel 4. Hasil Isolasi dan Identifikasi virus terhadap Influenza A.

No	Kode Isolat	Pasase pada TET	Hasil uji agglutinası sel darah merah ayam dan angsa	Hasil uji ELISA terhadap virus influenza A
1.	B21	P3	+ *	-
2.	B27	P3	+	-
3.	B38	P4	+	-
4.	B46	P3	+	-
5.	B49	P3	+	-
6.	B52	P3	+	-
7.	B58	P4	+	-
8.	B64	P4	+	-
9.	B76	P3	+	-
11.	B91	P4	+	-
12.	B124	P3	+	-

* + : mengaglutinasi sel darah merah

(+1). Serum babi dan bebek yang positif dengan uji AGID tersebut kemudian diuji lebih lanjut dengan uji yang lebih sensitif menggunakan ELISA dan dilakukan di AAHL, Geelong Australia dengan menggunakan anti protein matrik virus Influenza A. Hasil pengujian memperlihatkan bahwa seluruh sera yang bereaksi positif lemah pada uji AGID tadi tidak bereaksi dengan uji ELISA. Selanjutnya ke-10 serum tadi diuji lagi dengan uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) terhadap HI (H1N1 klasik), H3 (H3N3) dan H7 (H7N7) juga dilakukan di AAHL, dengan hasil reaksi negatif seperti tertuang pada Tabel 3.

Upaya isolasi virus Influenza A yang dilakukan dari 134 paru-paru dan trakhea babi dari RPH Kapuk, Jakarta yang menunjukkan kelainan pneumonia, menunjukkan ada 12 isolat virus yang berhasil diisolasi. Isolat tersebut tumbuh pada telur ayam tertunas (TET) ditandai dengan adanya reaksi agglutinası sel darah merah ayam dan angsa. Reaksi ini menunjukkan seluruh isolat tadi mengandung virus yang mengagglutinası sel darah merah yang diuji (Tabel 4). Isolat tersebut

berasal dari paru-paru babi yang menderita pneumonia dan berasal dari RPH Kapuk. Hasil identifikasi awal dengan menggunakan acuan serum influenza (H7N7) ternyata virus tadi tidak memberikan reaksi inhibisi pada uji HI. Untuk itu isolat tersebut diidentifikasi lebih lanjut terhadap adanya virus Influenza A di AAHL, Australia dan hasilnya menunjukkan bahwa isolat tersebut bukan virus influenza tipe A.

PEMBAHASAN

Identifikasi awal adanya infeksi virus Influenza A pada berbagai spesies hewan dilakukan dengan pengujian serologi menggunakan Uji Agar Gel Immunodiffusion (AGID), yaitu dengan mendeteksi adanya antibodi spesifik terhadap matrik protein dari virus. Virus yang digunakan sebagai antigen pada uji AGID adalah virus Avian influenza tipe A subtype H7N7 LPAI. Dengan uji AGID ini dapat dideteksi semua antibodi terhadap matrik atau *nucleoprotein* virus influenza A, sehingga bila dalam serum terdapat antibodi terhadap matrik maka antibodi tersebut akan

terlihat reaksinya dan merupakan anti terhadap virus kelompok influenza A. Hasil pengujian memperlihatkan 10 serum bereaksi positif pada uji AGID, mengindikasikan bahwa serum mengandung antibodi terhadap virus influenza A. Namun bentuk garis presipitasi tersebut sangat tipis atau disebut reaksi lemah. Pada saat penelitian berlangsung, wabah AI type A subtype H5N1, belum terjadi di Indonesia, sehingga H7N7 yang merupakan virus LPAI digunakan sebagai antigen pada penelitian ini.

Pada uji AGID, ada reaksi kuat (+++) dan ada reaksi lemah (+). Reaksi kuat ini lebih menguatkan interpretasi terhadap adanya infeksi virus influenza tipe A, sedangkan reaksi lemah (+) mengindikasikan adanya reaksi silang yang tidak spesifik terhadap protein lainnya. Untuk itu maka diperlukan uji lanjutan yang lebih sensitif, seperti uji HI terhadap semua panel H dan N. Selanjutnya jika ada serum yang positif kuat (3+) maka perlu diidentifikasi lebih lanjut untuk penentuan subtype yang spesifik seperti terhadap H1N1, H3N3, H5N1 atau H7N7. Dengan perkataan lain hasil dengan uji AGID ini belum dapat menentukan secara spesifik apakah hewan terinfeksi oleh influenza virus tipe A dengan subtype HI, H3 atau H7 seperti flu babi H1N1 novel, Avian influenza H5N1 atau H3N2. Namun karena ketidak tersedianya panel influenza di Bbalitvet pada saat penelitian (sebelum tahun 2003), maka uji ELISA terhadap kelompok virus influenza tipe A dilakukan di AAHL, Australia.

Hasil serologis menunjukkan bahwa prevalensi paling tinggi terdapat pada bebek, mencapai 5% yang terdiri dari bebek di Merauke dan Sumatera Utara. Meskipun prevalensinya tergolong rendah, tetapi menurut Olsen et al., (2006), bebek merupakan reservoir yang baik bagi Avian influenza. Lebih lanjut Ronohardjo (1982) telah berhasil melakukan isolasi virus influenza tipe A pada bebek, burung Nuri dan burung pelikan di Indonesia.

Alexander *et al.* (1986) melaporkan pada inokulasi virus AI baik yang patogen maupun yang tidak patogen, secara intra muskuler, *infra nasal* atau kontak langsung pada bebek, tidak menimbulkan gejala klinis, meskipun antibodi dapat terdeteksi. Hal ini menunjukkan bahwa bebek dapat bertindak sebagai reservoir virus AI. Selain bebek, angsa juga diketahui

sebagai reservoir utama virus AI yang dapat menyebarkan AI pada unggas domestik lainnya (Hanson *et al.*, 2003). Pada bebek, meskipun bebek telah dibuktikan sebagai reservoir influenza, namun uji serologis tidak selalu menunjukkan garis presipitasi pada uji AGID (Alexander *et al.*, 1986). Hal ini terlihat dari hasil serologis pada bebek, dimana prevalensi yang dihasilkan sangat rendah dan hasil uji lanjutan dengan uji ELISA, menunjukkan tidak adanya reaktor.

Infeksi virus AI pada bebek tidak menimbulkan gejala klinis, berlainan dengan laporan klinis saat terjadi wabah AI tahun 2003 di Indonesia, yang menyatakan gejala klinis juga menyerang bebek (Wiyono kompri). Pada penelitian ini serum darah bebek diperoleh dari bebek yang secara klinis sehat.

Secara alami, virus influenza berada pada induk semangnya yang bertindak sebagai reservoir, diantaranya bebek, burung liar, burung air dan burung pantai (Kawaoka *et al.* (1988). Hewan reservoir, terutama burung liar yang bermigrasi berperan sebagai sumber penularan untuk hampir semua virus AI, baik Avian influenza maupun *mammalian influenza*. Umumnya pada hewan reservoir, gejala klinis tidak tampak, tetapi virus dan antibodi dapat terdeteksi (Webster *et al.* 1992).

Beberapa virus AI seperti subtype H5N1 dapat berevolusi pada bebek yang kemudian menjadi sangat patogen bila menyerang ayam, sedangkan pada bebek tersebut tidak menyebabkan sakit, meskipun antibodi dan virus H5N1 AI dapat terdeteksi (Chen *et al.*, 2004). Virus AI, H5 dan H7 dapat diisolasi dari bebek tanpa menyebabkan sakit dan kematian pada bebek tersebut (Chen *et al.*, 2004). Tetapi penelitian Sturn-Rimirez *et al.*, (2004), melaporkan bahwa virus H5N1 AI yang diisolasi dari burung air liar di Hongkong tahun 2002, dapat menyebabkan gejala syaraf dan kematian pada bebek, baik secara infeksi buatan maupun infeksi alam (Chen *et al.*, 2004). Umumnya virus AI menyebabkan subklinis pada bebek tetapi sangat akut pada ayam (Harimoto dan Kawaoka, 2001). Pada kalkun infeksi LPAI masih menimbulkan gejala klinis yang lebih parah dibanding pada ayam (Mutinelli *et al.*, 2003).

Penularan virus AI umumnya secara aerosol atau kontak langsung dengan peralatan atau feses yang tercemar (Swayne dan Suarez, 2000; Swayne, 2008).

Umumnya infeksi HPAI menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi pada ayam. Kematian mendadak dapat ditemukan akibat infeksi HPAI, yang disertai dengan kerusakan secara sistemik pada jaringan usus, otak dan kulit (Damayanti *et al.*, 2004). Sedangkan pada infeksi LPAI tidak menimbulkan gejala yang khas, bahkan lebih sering tidak menimbulkan gejala klinis, dan kerusakan yang ditimbulkan biasanya bersifat lokal (Damayanti *et al.*, 2004).

Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya reaktor pada hewan lainnya seperti sapi, kambing, domba, anjing, kuda dan ayam. Meskipun Harimoto dan Kawaoka 2001, melaporkan bahwa virus influenza A dapat menyerang hewan lainnya selain unggas. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa sebelum terjadinya wabah AI tahun 2003, seandainya infeksi Influenza A ada pada ternak maka penyakitnya bukan merupakan suatu masalah yang besar.

Swayne *et al.*, (1998) melaporkan bahwa mutasi virus LPAI menjadi *High pathogenic AI (HPAI)* dapat terjadi pada embrio ayam, dan HPAI dapat terjadi akibat mutasi LPAI pada unggas (ayam), tetapi adanya HPAI pada ayam, maka ayam tersebut tidak dapat bertahan lama sebagai reservoir virus HPAI. Selanjutnya menurut Stalknecht (1998) dan Olsen *et al.* (2006), bebek merupakan reservoir virus AI, karena reaktor dan eksresi virus MP AI (*mild pathogen Avian Influenza*) paling tinggi ditemukan pada bebek. Berbeda dengan ayam dan burung puyuh, kedua jenis unggas ini bukan merupakan hewan reservoir AI, sehingga antibodi tidak pernah terdeteksi apabila infeksi AI tidak terjadi. Membandingkan dengan hasil penelitian ini dimana antibodi pada ayam tidak terdeteksi, maka disimpulkan bahwa infeksi influenza pada ayam pada tahun sebelum terjadinya wabah tidak ditemukan di Indonesia. Selain itu, ayam dan bebek yang diperiksa, tidak memperlihatkan adanya gejala sakit.

Sebagaimana diketahui dan fakta yang terjadi bahwa lokasi peternakan bebek sangat berdekatan dengan peternakan ayam, sehingga kemungkinan kontak langsung antara reservoir bebek dengan ayam akan sangat tinggi. Prasetyo (kom.pri.) melaporkan bahwa umumnya pemeliharaan bebek di Indonesia bersifat ekstensif yang kadang-kadang dapat dikombinasikan dengan intensif, sedangkan sistem

pemeliharaan ayam ras adalah intensif. Sementara itu, pemeliharaan ayam buras kebanyakan masih bersifat ekstensif. Adanya perbedaan cara pemeliharaan ini, menghindari terjadinya kontak langsung antara bebek dan ayam ras. Namun berbeda dengan ayam kampung dimana kontak langsung antara bebek dengan ayam kampung tidak dapat dihindari, sehingga bila terjadi AI pada bebek atau bebek bertindak sebagai reservoir AI maka ayam kampung akan langsung terinfeksi dan terjadi wabah untuk yang pertama kali. Sehingga bila ada AI di Indonesia sebelum tahun 2003, akan ditemukan reaktor serologis dengan prevalensi yang tinggi pada bebek dan ayam. Tetapi hal ini tidak ditunjukkan pada data yang diperoleh pada penelitian ini.

Gambaran serologis pada babi menunjukkan bahwa hanya 0,4 % serum babi yang diuji memberikan reaksi positif lemah dengan uji AGID. Uji lanjut serum yang bereaksi lemah dengan ELISA, menunjukkan bahwa serum tersebut negatif terhadap kelompok virus influenza tipe A. Hal ini menunjukkan bahwa serum yang bereaksi lemah tersebut mengandung antibodi, bukan untuk kelompok virus influenza tipe A. Artinya serum babi yang diuji pada tahun sebelum terjadinya wabah AI pada unggas, tidak mengandung antibodi terhadap virus Influenza A. Hal ini menggambarkan bahwa penyakit flu babi saat itu bukan merupakan masalah yang serius bagi peternakan babi di Indonesia.

Pada saat pengambilan sampel organ babi di RPH Kapuk, dijumpai adanya kelainan patologi pada paru-paru dan trakhea babi, seperti hiperemia pada mukosa pharing. Pada bronchus dan bronchiol ditemukan eksudat. Jaringan paru-paru yang mengalami pneumonia berwarna merah gelap keunguan, dan banyak ditemukan di daerah lobus apeks. Pada kasus tertentu, limphoglandula bronchiol membesar, odem dan pembendungan.

Upaya pendeteksian infeksi Influenza pada babi, dilakukan dengan isolasi virus dari sampel paru-paru babi yang menunjukkan gangguan pneumonia pada TET memperlihatkan adanya 12 isolat virus yang dapat mengagglutinasikan sel darah merah angsa dan ayam. Semua isolat tersebut diperoleh dari TET pada pasase ke-3 dan ke-4 (Tabel 4). Pada pasase 1 dan ke-2, isolat belum terdeteksi. Hal ini terlihat dari uji aglutinasi dengan menggunakan sel darah merah angsa dan ayam.

Sehingga pasase buta (*blind pas age*) dilakukan hingga 5 kali sebelum dinyatakan negatif adanya isolat virus. Isolat yang mengaglutinasi sel darah merah baru diperoleh pada pasase ke-3 dan ke-4. Hal ini menunjukkan bahwa spesimen paru-paru dan trakhea mengandung sangat sedikit virus sehingga pada pasase pertama dan kedua belum mencapai jumlah yang cukup untuk mengaglutinasi sel darah merah angsa dan ayam. Selain konsentrasi virus, TET yang digunakan bukan merupakan telur *Specific Pathogen Free* (SPF). Penggunaan telur SPF akan meningkatkan sensitifitas infeksi virus pada embrio TET tersebut. Mahalnya dan sulitnya mendapatkan telur SPF, maka penggunaan TET dari ayam petelur atau pedaging digunakan dalam penelitian ini.

Hasil uji identifikasi terhadap antigen H7 dengan uji HI menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak menetralkan antisera H7. Uji antigen deteksi ELISA terhadap kelompok virus influenza tipe A menunjukkan bahwa isolat tersebut bukan virus influenza tipe A. Hal ini mungkin dapat disebabkan oleh virus lainnya selain influenza tipe A yang juga dapat menggaglutinasi sel darah merah angsa dan ayam, seperti virus *porcine respiratory corona* (PRC) dan virus *haemagglutinating encephalomyelitis* (HE).

Pada babi adanya kelainan pneumonia tidak hanya disebabkan oleh virus Influenza A, tetapi juga dapat disebabkan oleh virus lainnya, seperti virus *porcine respiratory corona* (PRC) yang juga virusnya dapat mengaglutinasi darah angsa atau ayam. Dengan demikian maka virus yang berhasil diisolasi dalam penelitian ini kemungkinan adalah virus PRC, meskipun untuk konfirmasinya diperlukan pengujian lebih lanjut. Sementara untuk adanya dugaan virus *haemagglutinating encephalomyelitis* masih terbuka. Dari perolehan data, dapat disimpulkan bahwa infeksi Influenza babi tidak terjadi, meskipun kelainan paru-paru berupa pneumonia terjadi pada babi yang diambil sampelnya. Selain akibat infeksi virus, infeksi bakteri seperti *Haemophilus parasuis* dapat pula terjadi, yang juga dapat mengaglutinasi butir darah merah ayam.

Pengamatan di lapang, baik di rumah potong hewan maupun di peternakan babi menunjukkan bahwa gejala klinis infeksi saluran pernafasan berupa batuk, sesak nafas, dan pernafasan cepat tidak dijumpai pada

saat penelitian ini berlangsung. Kondisi ini memperlihatkan bahwa penyakit pernafasan belum menjadi permasalahan yang serius. Kematian babi terutama anak atau bayi babi di peternakan babi, disebabkan oleh terganggunya bayi babi oleh induk, diare, lahir lemas, kadang tampak sesak nafas, kemudian mati.

Adanya temuan hasil AGID positif pada empat serum babi, meskipun lemah, tetapi tidak berhasil mengisolasi agen penyebab, juga dialami oleh peneliti sebelumnya. RONOARDJO (1982) yang telah berhasil mengisolasi virus influenza A hanya pada burung nuri, burung pelikan dan bebek.

Sementara isolat dari babi tidak diperoleh, meskipun secara serologis dengan menggunakan uji *Agar Gel immunodiffusion* (AGID), menunjukkan 38% serum babi bereaksi positif. Tidak diketahui dengan jelas apakah reaksi positif yang dihasilkan adalah reaksi lemah (1+) atau kuat (3+). Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan bahwa secara serologis tidak memberikan hasil positif dan tidak diperoleh isolat virus influenza A.

Adanya wabah AI tahun 2003 pada unggas terutama pada ayam (Damayanti et al., 2004), yang menyebabkan kerugian yang sangat banyak bagi perunggasan Indonesia. Baik kerugian secara mated maupun sosial, telah menimbulkan beberapa spekulasi mengenai asal terjadinya wabah. Apakah wabah AI berasal dari babi atau hewan lainnya.

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa wabah AI yang terjadi di Indonesia merupakan infeksi yang baru, dan bukan akibat penularan melalui hewan reservoir yang telah ada di dalam negeri baik melalui bebek maupun babi. Pintu masuknya penyakit ke Indonesia bisa melalui lalu lintas unggas yang dapat berasal dari *port of entry* yang legal, illegal atau dari migrasi unggas liar.

Selanjutnya mengingat penyakit Influenza A pada unggas serta influenza babi yang namanya mulai mencuat dan bersifat zoonosis potensial, maka infeksi influenza A pada ternak babi perlu mendapat perhatian yang serius dan diwaspadai agar pandemi AI pada manusia yang berasal dari ternak (unggas dan babi) dapat dicegah, tidak seperti kejadian pandemi influenza H1N1 novel yang awalnya terjadi di Mexico tahun 2009.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa sebelum terjadi wabah AI tahun 2003 infeksi influenza A di Indonesia tidak terdeteksi dan tidak menimbulkan masalah bagi peternak terutama unggas dan babi di Indonesia. Namun demikian mengingat penyakit ini bersifat zoonosis yang potensial, maka infeksi influenza A pada ternak perlu mendapat perhatian dan diwaspadai agar wabah flu, seperti flu babi yang terjadi di Mexico, dapat dicegah. Untuk pencegahan dan pengendalian penyakit, maka peran banyak pihak terkait dengan karantina, surveilan penyakit dan penelitian diperlukan sehingga Indonesia tidak menjadi daerah endemik flu yang patogen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis tujukan pada Dr Peter Daniels, yang telah membantu pada penelitian ini. Terimakasih juga ditujukan pada teman sejawat di bagian Virologi dan Patologi serta para teknisi dan staf perpustakaan Bbalitvet atas saran, dan bantuannya baik di lapang maupun di laboratorium serta pengumpulan bahan bacaan sehingga tulisan ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander DJ, G Parsons and RJ Manvell. 1986. Experimental assessment of the pathogenicity of eight avian influenza A viruses of H5 subtypes for chickens, turkeys, ducks and quail. *Avian Pathology* **15**, 647-662.
- Alexander DJ and IH Brown. 2009. History of highly pathogenic avian influenza. *Revue Scientifique et Technique Office International Epizootic* **28**, 19-38.
- Bachmann PA. 1989. Swine influenza virus. In "virus infection of pigs". p193-207. Elseviers Science, London.
- Brockwell-Staatz C, RG Webster and RJ Webby. 2009. Diversity of influenza viruses in swine and the emergence of a novel human pandemic influenza A (H1N1). *Influenza other Respiratory. Viruses* **3**, 207-213.
- Chen H, G Deng, Z Li, G Tian, Y Li, P Jiao, L Zhang, Z Liu, RG Webster and K Yu. 2004. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *Proceeding National Academic Science USA* **101**, 10452-10457.
- Damayanti R, NLPI Dharmayanti, R Indriani, A Wiyono dan Darminto. 2004. The clinico-pathological effects of chicken infected with highly pathogenic avian influenza in some farms located in East Java and West Java. *JITV* **9**(2), 128-135.
- Dharmayanti NLPI dan Darminto. 2009. Mutasi virus AI di Indonesia: Antigenic drift protein Hemagglutinin (HA) virus Influenza H5N1 tahun 2003 - 2009. *Media Kedokteran Hewan* **25**, 1-8.
- Guo Y, M Wang, Y Kawaoka, O Gorman, T Ito, T Saito and RG Webster. 1992. Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology* **188**, 245-255.
- Hanson BA, DE Stallknecht, DE Swayne, LA Lewis and DA Senne. 2003. Avian Influenza viruses in Minnesota ducks during 1998 - 2000. *Avian Disease* **47**, 867-871.
- Harimoto T and Y Kawaoka. 2001. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clinical Microbiology Reviews* **14**, 129-149.
- Katz JM. 2003. The impact of avian influenza viruses on public health. *Avian Diseases* **47**, 914-920.
- Kawaoka Y, TM Chambers, WL Sladen and RG Webster. 1988. Is the gene pool of influenza viruses in shorebirds and gulls different from that in wild ducks?. *Virology* **163**, 247-250.
- Malik Peiris JS. 2009. Avian influenza viruses in humans. *Revue Scientifique et Technique Office International Epizootic* **28**, 161-174.
- Murinelli F, I Capua, C Terregino and G Cattoi. 2003. Clinical, gross, and microscopic findings in different avian species naturally infected during the H7N1 low- and high-pathogenicity avian influenza epidemics in Italy during 1999 and 2000. *Avian Disease* **47**, Suppl. 844-888.
- OIE (World Organization for Animal Health). 2004. First case of Avian Influenza confirmed in Indonesia. Tgl. 1 September 2010. http://www.oie.int?Ene/press/en_040129.htm
- Olsen CW, L Bammer, BC Easterday, N Arden, E Belay, I Baker and NJ Cox. 2002. Serologic evidence of H1 Swine influenza virus infection in swine farm residents and employees. *Emerging Infectious Disease* **8**, 814-815.
- Olsen CW, I Brown, BC Easterday and K Van Reeth. 2005. Swine influenza. In: "Diseases of swine". Eds. Straw B D'Allaire S Zimmerman J and Taylor D. 469-482. Iowa State University Press, Iowa, USA.
- Olsen B, VJ Munster, A Wallensten, J Waldenstrom, AD Osterhaus and RA Fouchier. 2006. Global patterns of influenza A viruses in wild birds. *Science* **312**, 384-388.
- Reperant LA, GF Rimmelzwaan and T Kuiken. 2009. Avian influenza viruses in mammals. *Revue Scientifique et Technique Office International Epizootic* **28**, 137-159.
- Ronohardjo P. 1982. Virus influenza A itik di Indonesia serta pengaruhnya pada kesehatan masyarakat dan ekonomi peternakan. *Thesis Doktor*. 1-190. Sekolah Pasca Sarjana IPB.
- Sanford SE, GKA Josephson and DW Key. 1983. An epizootic of swine influenza in Ontario. *Canadian Veterinary Journal* **24**, 167 - 171.
- Sendow I, PW Daniels, DH Cybinski, PL Young and P Ronohardjo. 1991. Antibodies against certain bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viral serotypes in Indonesian ruminants. *Veterinary Microbiology* **28**, 111-118.
- Schrader C and J Suss. 2004. Molecular epidemiology of porcine H3N2 influenza viruses isolated in Germany

between 1982-2001. *Intervirology* 47, 72-77.

- Stalknecht DE. 1998.** Ecology and epidemiology of avian influenza viruses in wild birds populations waterfowl, shorebirds, pelicans, cormorants. In *Proceeding of 4th International Symposium on Avian Influenza*. Eds. Swayne DE and RD Slemons. Athens, Georgia, United States of America. Animal Health Association. Richmond Virginia. Pp. 61-69.
- Sturn-Ramirez KM, T Ellis, B Bousfield, L Bissett, K Dyrting, JE Reh, L Poon, Y Guan, M Peiris and RG Webster. 2004.** Reemerging H5N1 influenza virus in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *Journal of Virology* 78, 4892-4901.
- Swayne DE, JR Beck, M Garcia, ML Perdue and M Brugh. 1998.** Pathogenicity shift in experimental avian influenza infections in chickens. In *Proceeding of 4th International Symposium on Avian Influenza*. Eds. Swayne DE and RD Slemons. Athens, Georgia, United States of America. Animal Health Association. Richmond Virginia. Pp. 171-181.
- Swayne DE and DL Suarez. 2000.** Highly pathogenic avian influenza. *Revue Scientifique et Technique Office International Epizootic* 19, 463-482.
- Swayne DE. 2008.** Epidemiology of Avian Influenza in agricultural and other man made systems. In *Avian Influenza*. Ed. DE Swayne. Blackwell Publishing, Ames, Iowa. Pp. 59-85.
- Webster RG, WJ Bean, OT Gorman, TM Chambers and Y Kawaoka. 1992.** Evolution and ecology of Influenza A viruses. *Microbiology Review* 56, 152-179.
- Wright SM, Y Kawaoka, GB Sharp, DA Senne and RG Webster. 1992.** Interspecies transmission and reassortment of influenza A viruses in pigs and turkeys in the United States. *American Journal of Epidemiology* 136, 488-497.